

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(1) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 521 139

102

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(2)

N° 83 01871

(54) Acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique, sels pharmacologiquement acceptables et son application thérapeutique.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). C 07 D 217/04; A 61 K 31/47.

(22) Date de dépôt..... 7 février 1983.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : SU, 10 février 1982, n° 3381599.

(41) Date de la mise à la disposition du public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 32 du 12-8-1983.

(71) Déposant : KIEVSKY NAUCHNO-ISSLEDOVATELSKY INSTITUT ENDOKRINOLOGII I OB MENA VESCHESTV, KIEVSKY NAUCHNO-ISSLEDOVATELSKY INSTITUT FARMAKOLOGII I TOXIKOLOGII et INSTITUT ORGANICHESKOI KHIMII AKADEMII NAUK UKRAINSKOI SSR — SU.

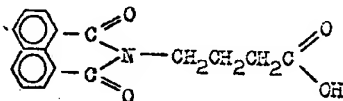
(72) Invention de : E. A. Semenovitch, M. I. Mikhailovich, T. J. Vasilievitch, T. N. Dmitrievitch, E. E. Konstantinovna, O. I. Gennadievna, G. V. Maximovich, K. L. Alexeevitch, S. V. Ivanovich, Z. J. Leonidovich, M. N. Antonovich et K.L. Mikhailovna.

(73) Titulaire : *idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Lavoix,
2, place d'Estienne-d'Orves, 75441 Paris Cedex 09.

La présente invention se rapporte à une nouvelle substance et elle a notamment pour objet l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique, des sels pharmacologiquement acceptables de celui-ci, ainsi qu'à une préparation pharmaceutique. L'invention peut trouver une application en médecine pour le traitement des complications résultant du diabète sucré.

L'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique a la formule structurale suivante :

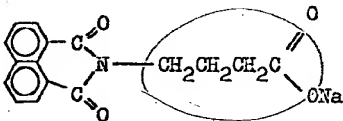


15

L'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique se présente sous forme d'une poudre à grains fins de couleur blanche jaunâtre, soluble dans les solutions de carbonate de sodium et alcalines, non soluble dans l'eau et soluble, sous l'effet d'un chauffage, dans l'alcool et dans le diméthylformamide.

La température de fusion est de 178 °C à 180 °C (pour l'acide obtenu par recristallisation dans un milieu d'éthanol).

Le sel sodique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique a la formule structurale suivante :

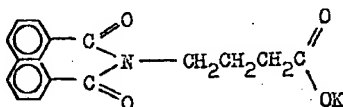


30

Ce sel se présente sous forme d'une poudre blanche teintée en jaune, facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool éthylique, non soluble dans le benzène.

La température de fusion est de 279 à 283 °C (avec décomposition).

Le sel potassique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique a la formule suivante :



Ce sel est une poudre de couleur blanc crème, facilement soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool éthylique et non soluble dans le benzène.

La température de fusion du sel en question est comprise entre 290° et 292 °C (avec décomposition).

L'invention a également pour objet une préparation chimiothérapeutique pour le traitement des complications résultant du diabète sucré, qui comporte, selon l'invention, de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou un de ses sels pharmacologiquement acceptables, en tant que principe actif, et un excipient.

Ces dernières années on a obtenu les indications sur la participation des métabolites, dans le cas de la voie sorbitolique de la transformation métabolique du glucose, à l'égard de l'évolution des angiopathies diabétiques. La voie sorbitolique de la transformation métabolique du glucose se caractérise par la présence de deux ferments susceptibles de transformer le glucose en fructose par l'intermédiaire du sorbitol :

aldose-réductase et sorbitol-déshydrase.

Le glucose peut pénétrer dans les cellules de certains tissus (cristallin, nerfs, reins, endothélium des vaisseaux) sans que l'insuline y participe. Lorsque le niveau de glucose dans le sang s'accroît, la concentration intracellulaire de celui-ci s'accroît elle aussi. On assiste à l'intensification de

l'activité de l'aldose-réductase et à l'augmentation de la vitesse de transformation du glucose en sorbitol. L'activité de la voie sorbitolique de la transformation métabolique du glucose s'accroît de 7 à 10 fois. Du fait que le sorbitol présente une très faible capacité de pénétration à travers la membrane cellulaire, il se produit une accumulation de celui-ci dans les cellules. Sous l'effet de la sorbitol-déshydrase le sorbitol se transforme en fructose, mais dans certains tissus la transformation métabolique du fructose est peu intense ce qui conduit finalement à l'accumulation du sorbitol et du fructose dans le tissu d'où la rétention de liquide et le gonflement des tissus. Une accumulation excessive du sorbitol et un déséquilibre osmotique peuvent conduire à l'épaississement de la membrane basale, à l'apparition de l'œdème, de l'hypoxie, à l'altération de la barrière métabolique de la paroi vasculaire et au dépôt des produits, résultant de la transformation métabolique, dans cette paroi.

Pour affaiblir l'accumulation du sorbitol dans les tissus, on propose de bloquer l'aldose-réductase à l'aide de la préparation revendiquée.

Il est bon que la préparation chimiothérapeutique pour le traitement des complications résultant du diabète sucré comporte l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou ses sels pharmacologiquement acceptables en tant que principe actif en quantité de 0,25 à 0,5 g et un excipient.

Cette forme pharmaceutique peut être utilisée pour le traitement et la prophylaxie des complications diabétiques suivantes : angiopathies diabétiques, polyneuropathies, néphropathies, encéphalopathies, rétinopathies, cataracte.

Il est avantageux qu'en tant qu'excipient soit utilisée une charge pharmaceutique nécessaire pour la préparation des comprimés. On peut utiliser, par exemple, les charges suivantes : gélatine, talc, paraffine, amidon, lactose, pectine, acétylcellulose, stéarate de calcium, stéarate de magnésium, polyvinylpyrrolidone.

Les comprimés sont administrés à raison de 50 à 100 mg/kg de poids corporel par jour (séances de 30 jours 2-3 fois par an suivant la gravité de l'affection).

Il est intéressant que la préparation chimiothérapeutique destinée au traitement des complications diabétiques comporte du sel sodique ou potassique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de) isoquinoléine-2(3H)-butyrique en tant que principe actif et un excipient, ces composants étant présents dans la proportion suivante, % en poids :

10	sel sodique ou potassique de l'acide	
	1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)	
	butyrique.....	1 à 10
	excipient.....	90 à 99

Cette forme pharmaceutique peut être utilisée sous forme d'une pommade appliquée avant le coucher sur les endroits malades pour le traitement de la rétinopathie diabétique et de la cataracte.

Dans ce cas-là l'excipient est constitué d'une charge pharmaceutique se présentant sous forme d'une pommade. En tant que charge pharmaceutique on peut utiliser, par exemple, un mélange lanoline anhydre-vaseline dans le rapport 1:9.

Il est possible d'avoir recours à une autre forme pharmaceutique utilisant, en tant qu'excipient, une charge pharmaceutique et se présentant sous forme d'un suppositoire. Le poids du suppositoire se situe entre 1,4 et 4,0 g. Il est recommandé d'employer les suppositoires dans le cas d'absorption altérée dans le tractus gastro-intestinal. En tant que charge pharmaceutique pour le suppositoire on peut utiliser, par exemple, les substances suivantes : beurre de cacao, huiles grasses végétales et animales, huiles hydrogénées, mélange des graisses avec de la cire et du spermaceti, de l'ozocérite exempte de résine, de la paraffine dure etc.

Il est avantageux que la préparation chimiothérapeutique, utilisée pour le traitement des complications diabétiques, comporte une solution aqueuse à 1-2% de sel sodique ou potassi-

que de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique.

5 Cette forme pharmaceutique peut être utilisée sous forme de gouttes ophtalmiques pour le traitement des rétino-

5 pathies diabétiques et de la cataracte.

La toxicité aiguë de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique a été étudiée sur différents types d'animaux (souris blanches, rats, chiens). Les essais portaient sur les animaux pubères des deux sexes d'un poids de 18 à 22g

10 (souris blanches), de 180 à 220 g (rats), de 11 à 15 kg (chiens).

De l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique a été administré par voie orale, c'est-à-dire de manière analogue à celle que l'on propose d'utiliser dans la pratique thérapeutique pour administrer la préparation. La sub-

15 stance a été administrée sous forme d'une suspension d'amidon par l'intermédiaire d'une sonde stomacale.

Pour déterminer la toxicité aiguë de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique vis-à-vis des souris, des rats, des chiens, on a utilisé des doses différentes

20 (10 environ) de 1280 à 6000 mg/kg. Chacune des doses a été soumise à l'étude effectuée sur 5 à 6 animaux. Dans le but de déterminer la toxicité aiguë de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique, on a utilisé 51 souris blanches, 36 rats, 5 chiens.

25 En tant que paramètre de la toxicité aiguë on a utilisé la DL_{50} (dose létale caractérisée par 50 % de décès) déterminée suivant la méthode de Litchfield et Wilcoxon ou suivant Van der Waerden.

Les animaux ont été soumis à examen durant 5 jours.

30 L'image clinique de l'intoxication létale aiguë provoquée par l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique se caractérise par l'apparition de faiblesse, d'hypodynamie et par le ralentissement du rythme respiratoire. On observe seulement chez certains animaux une excitation initiale de courte

35 durée. Au bout de 6-8 heures les animaux se couchent sur le côté.

té, entrent progressivement dans le coma qui conduit au décès (autrement dit, on assiste à un dépérissement lent). Les animaux succombaient généralement durant les premières 24-28 heures.

- 5 Les résultats de l'étude de la toxicité aiguë de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique sont regroupés dans le tableau 1.

TABLEAU 1

10	Type d'animaux	Dose (mg/kg)	Indice de pertes des animaux *)	DL ₅₀ (mg/kg)
	1	2	3	4
15	Souris blanches	1260	-	
		1500	-	
		2000	-	
		3500	-	
		3750	3/5	3700 (2466 à
		4000	2/5	5500)
		4500	4/5	
20		4750	5/5	
		5000	3/5	
		5250	5/5	
25	Rats	3000	0/5	
		3500	2/5	
		4000	1/4	4000 (3030 à
		4500	3/5	5280)
		5000	4/7	
		5500	4/5	
		6000	5/5	
30	Chiens	5500	3/5	3800 (2235 à
				6450)

*) Numérateur - nombre d'animaux morts ;
dénominateur - quantité totale d'animaux dans le groupe.

Comme il ressort du tableau, que la DL_{50} caractérisant l'effet de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique sur les souris est de 3700 (2466,0 à 5590) mg/kg.

- 5 1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique vis-à-vis des rats et des chiens sont très proches de ceux qui sont indiqués ci-dessus. Ainsi, la DL_{50} pour les rats est de 4000 (3030 à 5280) mg/kg et de 3800 (2235 à 6460) mg/kg pour les chiens.

- 10 Afin de caractériser le risque de développement d'une intoxication léthale aiguë, on a déterminé l'intervalle de concentrations léthales. Selon les résultats obtenus, l'éventail de concentrations léthales de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique est assez large (3,4 pour les souris, 2,36 pour les rats, 2,88 pour les chiens) ce qui suggère l'évo-
- 15 lution éventuelle des réactions compensatoires de l'organisme en réponse à l'administration de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique dans un large intervalle de doses.

- 20 L'analyse de la toxicité aiguë de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique lors de l'administration simultanée montre que cet acide est peu toxique.

On a également déterminé la toxicité chronique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique et de ses sels.

- 25 Les essais portaient sur des rats, des chiens et des lapins. De l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique a été administré par voie orale à raison de 50 et 100 mg/kg 5 fois par semaine durant 6 mois. Il convient de remarquer que durant cette période aucune perte d'animaux recevant la préparation n'a été enregistrée.

- 30 Parmi les indices caractérisant l'action de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique sur l'organisme des animaux on peut citer : poids des animaux, formule sanguine périphérique (leucocytes, érythrocytes, hémoglobine), fonction des systèmes respiratoire et cardiovasculaire. Outre
- 35 ces indices physiologiques on a étudié l'action exercée par la

préparation pharmaceutique sur les fonctions du foie (formation des hydrates de carbone ainsi que la fonction uréopoiétique).

L'étude des indices mentionnés ci-dessus a été effectuée au début de l'expérience et ensuite en dynamique (au bout de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mois).

A la fin de l'expérience on a entrepris une étude pathomorphologique des organes suivants : poumons, coeur, foie, reins, glandes surrénales, rate, ganglion lymphatique, intestin, estomac, glande thyroïde et pancréas.

10 Durant la période de l'expérience on n'a pas observé des modifications sensibles dans la conduite des animaux. En plus, aucune différence au point de vue anthropologique n'a été observée entre les animaux soumis au traitement et les animaux témoins. L'accroissement du poids des animaux en 6 mois
15 était de 0,258 kg (rat) et de 0,7 kg (lapin). Néanmoins, on a constaté une tendance à la diminution du poids chez les chiens.

Le tableau 2 reprend les données relatives à la formule du sang périphérique et à la fonction uréopoiétique du foie des rats traités par l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)-isoquino-
20 léine-2(3H)-butyrique durant 6 mois à raison de 100 mg/kg de poids corporel.

TABLEAU 2

Indices à étudier	Indices statistiques	Données initiales	Délais d'observation après le début du traitement (mois)	
			1	2
1	2	3	4	5
Masse (g)	n	10	10	10
	M	182,0	263,0	290,0
	$\pm m$	5,65	3,60	5,0
	%v		+44,5	+59,3
	P		0,05	0,05
Hémoglobine (g%)	n	10	10	10
	M	93,4	99,6	97,1
	$\pm m$	1,95	1,00	2,00
	%v		+6,6	+3,96
	P		0,05	0,05
Leucocytes	n	10	10	10
	M	9 345	12 300	11 394,4
	$\pm m$	1 129,0	1 232,0	1 127,0
	%v		+31,6	+21,9
	P		0,05	0,05
Erythrocytes (milliers)	n	10	10	10
	M	4 700	4 895	5 043
	$\pm m$	25,7	35,93	31,00
	%v		+4,1	+7,3
	P		0,05	0,05
Urée	M	16,2	17,8	15,8
	$\pm m$	0,9	0,53	1,3
	%v		+9,8	-26,4
	P		0,05	0,05
Azote d'urée	M	7,55	8,29	7,37
	$\pm m$	0,41	0,24	0,6
	%v		+9,8	-2,38
	P		0,05	0,05
Azote résiduel	M	18,10	18,9	17,9
	$\pm m$	1,3	1,78	1,92
	%v		+4,4	-1,1
	P		0,05	0,05
Coefficient Urea Ratio		41,7	43,8	41,2

	Délais d'observation après le début du traitement (mois)			
	3	4	5	6
	6	7	8	9
Masse (g)	10 336,2 8,7 + 84,7 0,05 10	10 389,4 9,9 +113,8 0,05 10	10 402,5 22,2 +121,1 0,05 10	10 440,2 11,8 +141,7 0,05 10
Hémoglobine (g%)	107,5 15,1 +15,1 0,05	104,8 12,2 +12,2 0,05	96,3 3,6 +3,1 0,05	99,4 1,4 +6,4 0,05
Leucocytes	10 16225 1736,0 +75,9 0,05	10 11179,2 707,1 +19,6 0,05	10 13 750 1488,0 +47,1 0,05	10 9 356,2 1240,0 +0,1 0,05
Erythrocytes (milliers)	10 4 916 49,6 + 4,6 0,05	10 5 078 24,8 +8,0 0,05	10 4 991 31,00 +6,2 0,05	10 5 135 43,4 +9,2 0,05
Urée	16,9 1,2 +4,3 0,05	19,7 1,2 +21,6 0,05	17,2 0,63 +6,2 0,05	21,1 0,54 +30,2 0,05
Azote d'urée	7,87 0,56 +0,3 0,05	9,18 0,55 +21,6 0,05	8,01 0,29 -6,09 0,05	9,83 0,25 +30,2 0,05
Azote résiduel	18,4 1,56 + 1,6 0,05	19,6 1,94 +8,3 0,05	18,2 1,84 +1,1 0,05	21,5 3,4 +18,7 0,05
Coefficient Urea Ratio	42,3	46,8	44,01	45,7

11

- n - nombre d'animaux soumis à l'observation ;
 M - moyenne arithmétique des indices ;
 $\pm m$ - erreur moyenne ;
 %v - variation (%) ;
 P - certitude des résultats.

5

Les données indiquées montrent que l'utilisation de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique durant 6 mois n'a pas altéré la fonction sanguinopoïétique et n'a pas modifié la formule du sang périphérique tout en laissant sans changement la fonction uréopoïétique du foie chez les rats. Des données analogues sont obtenues dans le cas du traitement d'autres types d'animaux par l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique et par les sels de celui-ci.

10

L'expérience terminée (6 mois), les animaux ont été sacrifiés : les chiens à l'aide de thiopentane, les lapins par embolie gazeuse, les rats par l'éther éthylique. On a soumis à l'étude les organes suivants : poumons, coeur, foie, reins, glandes surrénales, rate, ganglions lymphatiques, intestin, estomac, glande thyroïde et pancréas. Le matériel a été fixé dans le formol, ensuite on a préparé les coupes à la paraffine que l'on a colorées avec de l'hématoxyline et avec de l'éosine.

20

Aucune modification n'a été révélée chez les animaux de tous les groupes soumis à l'autopsie.

L'étude du matériel obtenu permet de conclure que l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique, administré aux doses étudiées, ne provoque pas de modifications morphologiques de plusieurs organes étudiés chez les chiens, les lapins et les rats (poumons, coeur, foie, reins, glandes surrénales, rate, ganglions lymphatiques, estomac, glande thyroïde et pancréas). En même temps on a observé chez certains animaux des modifications insignifiantes dans le foie et dans les reins. Quant au foie, ces modifications peuvent être dues à l'administration de la préparation pharmaceutique par voie orale, tandis que les modifications dans les reins peuvent être liées à l'élimination de cette préparation.

35

Les modifications en question témoignent que l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique exerce, éventuellement, une action irritante non spécifique peu importante sur le foie et les reins. Ceci est confirmé par l'accroissement de la perméabilité vasculaire dans les glomérules (seulement chez les chiens) et par de faibles modifications locales dans le foie et dans les reins des lapins et des rats.

On a étudié l'effet de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)-isoquinoléine-2(3H)-butyrique et des sels de celui-ci sur l'évolution des angiopathies diabétiques.

Les essais portaient sur les rats mâles de souche Wistar d'un poids de 140 à 160 g. Le diabète a été provoqué par injection sous-cutanée de l'alloxane (Société "Chemapol") à raison de 150 mg/kg de poids corporel. On a utilisé, dans l'expérience, des animaux présentant un niveau du glucose dans le sang supérieur à 300 mg% (niveau stabilisé après administration de l'alloxane) et souffrant de glycosurie et de polydipsie.

La teneur en glucose du sang a été déterminée par la méthode utilisant la glucose-oxydase, la teneur en cholestérine suivant Ilck, la teneur en fructose suivant Roy, la teneur en aldose-réductase suivant la méthode de Haymon, Kinoshita, la teneur en sorbitol à l'aide de la méthode utilisant la sorbitol-déshydrase.

La biomicroscopie de la conjonctive a été opérée à l'aide d'un microscope muni d'un dispositif photographique avec flash.

Dans le but d'étudier les modifications, apparaissant dans les vaisseaux du système microcirculatoire, on a procédé à l'étude des capillaires répartis dans les muscles des extrémités postérieures des rats témoins et des rats soumis au traitement au bout de 6 et 12 mois depuis le début de l'expérience, ainsi qu'à l'étude des animaux souffrant de diabète prolongé dû à l'alloxane et recevant durant un mois l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique.

- Le matériau à étudier (morceaux de tissu musculaire) a été fixé avec un fixateur à 2 % d'osmium suivant Millionig, déshydraté et placé dans de l'époue-812. Les coupes extrêmement minces ont été contrastées avec de l'acétate d'uranyle et avec
- 5 du citrate de plomb suivant Reynolds et elles ont été étudiées à l'aide du microscope électronique type JEM-100C (la tension d'accélération étant de 80 kV). On a photographié les coupes des capillaires avec agrandissement (5000 à 8000). Les négatifs ont été agrandis 5 fois, après quoi on a procédé à la mesure
- 10 de l'épaisseur de la membrane basale des capillaires suivant la méthode de Yodayken en 10-12 points sur le pourtour de 10-12 vaisseaux de chacun des animaux. Lors de la détermination de la valeur moyenne on n'a pas mesuré l'épaisseur maximale de la
- membrane basale dans le cas des coupes franchement obliques des capillaires. Lorsque les parois présentaient les péricytes, l'é-
- 15 paisseur de ces derniers était déduite de l'épaisseur totale de la paroi vasculaire. Pour vérifier l'erreur de mesure, on a photographié l'objet-test (1154 lignes sur 1 mm) avec le même agrandissement.
- 20 Pour effectuer l'étude histologique, les morceaux de rein, de foie et de myocarde ont été fixés dans la formaline neutre à 10 %, déshydratés dans l'alcool, puis les coupes à la paraffine ont été colorés avec de l'hématoxyline et de l'éosine et suivant Van Guison.
- 25 Les essais biochimiques des animaux sains avant l'administration de l'alloxane ont montré que la teneur en glucose du sang était de $108 \pm 4,1$ mg %, la teneur en fructose était de $3,31 \pm 0,47$ mg %, la teneur en cholestérine était de $112 \pm 4,6$ mg %.
- Le réseau vasculaire de l'iris des animaux sains n'est
- 30 pas accentué, les vaisseaux principaux se trouvent à proximité de la pupille et se rétrécissent, ils sont rectilignes. Entre les vaisseaux principaux on distingue des vaisseaux minces peu nombreux. La courbure des artérioles et des veinules est minime, elles vont presque parallèlement.
- 35 L'introduction de l'alloxane a conduit à des modifica-

- tions accentuées des indices étudiés. Chez les animaux soumis à l'expérience on observe une hyperglycémie : $346,7 \pm 30,5$ mg % ($P < 0,001$), une augmentation de la teneur en fructose jusqu'à $12,3 \pm 2,57$ mg % ($P < 0,01$) et de la teneur en cholestérine jusqu'à $122 \pm 5,6$ mg % ($P > 0,1$).

- Dans le cas du diabète décompensé, provoqué par l'alloxane et caractérisé par l'évolution prolongée, on observe des modifications caractéristiques des vaisseaux microscopiques. L'image vasculaire de l'iris est très prononcée. Les veines sont tordues en forme de boucles et sont dilatées très nettement. Tous les vaisseaux sont injectés de sang avec gonflements en forme d'ampoule. A proximité de la pupille de l'iris on voit des microanévrismes isolés, des hémorragies. La circulation du sang est ralentie, il y a zones affectées (stase et thrombose).
- On a constaté la cataracte mûre de deux yeux généralement (75 % des animaux).

- Lors de l'étude histologique des organes intérieurs des rats présentant les indices très nets du diabète alloxanique on a observé les modifications structurales suivantes. Au point de vue macroscopique les reins ne sont pas modifiés. Mais l'étude microscopique montre que les dimensions des glomérules sont réduites, les capillaires de celles-ci sont rétrécis, parfois ils se soudent ou subissent une dilatation variqueuse. Les noyaux de l'endothélium sont hyperchromes. On trouve parfois, entre les boucles des capillaires, des gouttes d'hyaline. La fente de la capsule de glomérule est sensiblement élargie, les parois de la capsule sont épaissies. Autour des glomérules on distingue parfois des infiltrats lymphocytaires. L'épithélium des canalicules tordus est gonflé dans certains endroits d'où le rétrécissement des passages dans de tels canalicules. Au contraire, dans certains endroits l'épithélium est plus épais, les noyaux sont hyperchromes très sensiblement et les passages des canalicules sont élargis. On trouve des endroits où les canalicules sont détruits, les cellules épithéliales sont sou-
- vent desquamées, les noyaux sont pycnotiques ou ils sont ab-

sents, tandis qu'autour de tels canalicules il y a des agglomérations des lymphocytes, des histiocytes et des fibroblastes. On distingue dans les passages des canalicules des cylindres hyalins. Les modifications propres aux canalicules droits sont moins nettes mais ils présentent l'épaississement des cellules épithéliales et le caractère hyperchrome des noyaux, tandis que dans les espaces séparant les canalicules on trouve souvent des infiltrats lymphocytaires. On observe l'épaississement des parois des vaisseaux sanguins, l'imbibition plasmatique de celles-ci et l'accroissement de la couche adventice.

Les hépatocytes, présents dans le foie, sont gonflés, les espaces entre trabécules ne se distinguent pas, la structure trabéculaire des lobules est altérée. La plupart des hépatocytes a un protoplasme à gros grains, les grains formant parfois les agglomérations près de l'un des pôles de la cellule. Les noyaux sont hyperchromes, parfois ils sont absents. On trouve les groupes de cellules en état de nécrose. Souvent les hépatocytes ont les dimensions accrues, le protoplasme comporte de gros vacuoles, tandis que le noyau hyperchrome est repoussé vers la périphérie. On observe une quantité importante de cellules noires. Elles présentent des dimensions réduites, une forme anguleuse, le protoplasme est nettement oxyphile, homogène, tandis que les noyaux sont hyperchromes.

Les veines centrales sont dilatées, les vaisseaux des triades présentent des parois épaisses, on observe des infiltrats périvasculaires. On trouve parfois les triades autour desquelles il y a de nombreuses fibres conjonctives. Dans les espaces entre celles-ci on distingue des fibrocytes, les histiocytes, les lymphocytes et les cellules plasmatiques isolées. Les noyaux des cellules de Kupffer sont le plus souvent gonflés, présentent des dimensions accrues, mais on trouve également des cellules contractées avec noyaux pycnotiques. On constate un léger épaississement de la capsule de Glisson, le nombre de fibrocytes y est augmenté.

Les fibres constituant le myocarde ont un caractère

peu net dans le sens transversal, le sarcoplasme est homogène et, dans certains endroits, à grains fins. Les noyaux des fibres sont hyperchromes, les vaisseaux sanguins sont modérément léthoriques, les noyaux de l'endothélium des vaisseaux sont gonflés.

Lors de l'étude au microscope électronique on a décelé, dans les capillaires des muscles, une hyperplasie de l'endothélium, une pinocytose accentuée, une friabilité et un épaissement de la couche basale, c'est-à-dire que dans les muscles des extrémités des rats souffrant de diabète alloxanique apparaissent, déjà au bout de 6 mois, les symptômes de la microangiopathie diabétique.

L'un des symptômes les plus précoces et constants est l'épaississement de la couche basale des capillaires ce qui permet non seulement de diagnostiquer l'affection mais d'apprécier au point de vue quantitatif la manifestation de celle-ci et, par conséquent, la gravité de l'affection.

Les mesures de l'épaisseur de la membrane basale des capillaires chez les animaux traités et les animaux témoins ont montré que déjà au bout de 6 mois à partir du début de l'expérience l'épaisseur en question, chez les rats souffrant de diabète alloxanique, augmente de 1,5 fois (jusqu'à 90 nm, tandis que dans le groupe témoin elle est de 55 à 60 nm) et après 12 mois cette épaisseur a augmenté de 3 à 4 fois (160 à 220 nm).

Ainsi, les essais ont montré que dans le cas du diabète alloxanique prolongé chez les rats on observe, à part des modifications dystrophiques et destructives accentuées des organes intérieurs, des symptômes d'altération de la voie microcirculatoire, symptômes ressemblant à ceux observés chez l'homme atteint de diabète sucré. L'affection des vaisseaux est enregistrée, lors de l'étude des muscles des extrémités, au microscope électronique ainsi que lors de la biomicroscopie de l'iris.

Le modèle des angiopathies diabétiques obtenu a été utilisé pour le traitement des altérations métaboliques apparaissant dans le cas du diabète sucré, à l'aide de l'acide 1,3-

dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou de ses sels.

L'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou le sel sodique ou potassique de celui-ci a été administré aux animaux sous forme d'une suspension d'amidon par
5 l'intermédiaire d'une sonde stomacale. La durée du traitement était de 30 jours. Posologie : 50 mg/kg de poids corporel par jour.

Les animaux étant sacrifiés, on a procédé à l'étude histologique des organes intérieurs, qui a confirmé un effet
10 thérapeutique accentué dû à l'emploi de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de) isoquinoléine-2(3H)-butyrique.

Les glomérules reinales deviennent plus pléthoriques, l'épithélium des canalicules acquiert des limites plus nettes, le protoplasme devient moins vacuolé et granuleux. Le nombre
15 des zones nécrotiques et des infiltrats inflammatoires diminue.

On distingue, dans le foie, une structure nette des lobules et une disposition radiale des trabécules. On voit diminuer le gonflement des cellules, leurs contours deviennent nets, les noyaux acquièrent l'aspect normochrome et on distin-
20 gue, dans le protoplasme de la plupart des hépatocytes, des granulations fines diffuses. Les modifications dystrophiques du myocarde sont moins prononcées.

L'aspect vasculaire de l'iris devient plus accentué. Les vaisseaux sont moins injectés et moins contournés, la cir-
25 culation sanguine devient homogène.

Le symptôme de micro-angiopathie devient moins marqué : l'épaisseur de la membrane basale des capillaires des muscles des extrémités diminue de 1,5 fois environ (chez les rats atteints de diabète alloxanique durant 6 mois l'épaisseur de la
30 membrane en question diminue jusqu'à 65 nm ; lorsque la durée de maladie est de 12 mois, l'épaisseur mentionnée se situe entre 100 et 120 nm).

Le tableau 3 reprend les données sur la variation de l'épaisseur moyenne de la membrane basale des capillaires ré-
35 partis dans les muscles des extrémités des rats (en nanomètres)

à la fin de l'expérience. A des fins d'étude comparative on indique des données analogues relevant de l'effet de la préparation connue : acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-acétique (dénomination commerciale Alrestatine), au tableau 3 ci-après :

TABLEAU 3

Indice statistique	Contrôle (1)	Acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique		Sel sodique	
		avant administration	après administration	avant administration	après administration
10	n	50	40	40	32
15	M	69,8	191	98,3	184
	$\pm \sigma$	7,46	28	11,3	22,9
	$\pm m$	2,48	3,29	1,78	4,05
	P _C		< 0,001		< 0,001
	P _g		< 0,001		< 0,001
20	P ₂₋₃				> 0,1
	P ₂₋₄				
	P ₃₋₄				

Suite du TABLEAU 3

5	Sel potassique		Acide 1,3-dioxo-1H-benz(de) isoquinoléine-2(3H)-acétique	
	avant ad- ministra- tion	après administra- tion	avant administra- tion	après administra- tion
n	36	36	36	36
M	192,5	98,6	188	112
± 6	27,1	9,1	22,16	12,97
10 $\pm m$	4,51	1,51	3,69	2,16
P _c	< 0,001		< 0,001	< 0,001
P _g		< 0,001	< 0,001	< 0,001
P ₂₋₃				
P ₂₋₄	> 0,1			
15 P ₃₋₄	> 0,1			

- n - volume de l'ensemble ou le nombre total de variantes choisies pour le traitement, c'est-à-dire le nombre de capillaires étudiés chez les animaux traités et les animaux témoins ;
- 20 M - moyenne arithmétique de la série variationnelle : épaisseur de la membrane basale des capillaires des muscles, qui sert d'indice quantitatif de l'affection, c'est-à-dire de la gravité de la micro-angiopathie ;
- 6 - écart quadratique moyen de la valeur M ;
- 25 m - erreur moyenne ;
- P_c - niveau de signification ou d'authenticité de la différence par rapport au témoin ;
- P_g - niveau de signification ou d'authenticité de la différence au sein de chacun des groupes avant et après administration des préparations à étudier ;
- 30

P_{2-3'} 2-4' 3-4 - identique pour la comparaison des groupes 2 et 3, 2 et 4, 3 et 4.

Ainsi, les résultats des essais effectués montrent que le composé nouvellement synthétisé (acide 1,3-dioxo-1H-benz(de) isoquinoléine-2(3H)-butyrique) et ses sels sodique et potassique présentent des propriétés supérieures à celles du composé connu /acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-acétique/ au point de vue activité biologique.

La détermination de l'activité de l'aldose-réductase dans les tissus des animaux traités avec l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou avec le sel sodique ou potassique de celui-ci a permis de confirmer l'action inhibitrice des composés sur l'aldose-réductase (tableau 4).

TABLEAU 4

Type de tissu	Activité de l'aldose-réductase en μ mole de substrat/mg de protéines		
	Animal normal	Animaux atteints de diabète alloxanique	Animaux atteints de diabète alloxanique et recevant l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique
Cristallin	1,54 \pm 0,23	10,3 \pm 0,6	3,4 \pm 0,30
Nerf	4,19 \pm 0,15	38,5 \pm 4,6	25,5 \pm 2,1
Aorte	2,46 \pm 0,2	16,6 \pm 1,1	7,4 \pm 0,8

La teneur en sorbitol et en fructose dans les tissus des animaux soumis à l'expérience a diminué.

TABLEAU 5

Type de tissu	Teneur en sorbitol μ mole/g de tissu		Teneur en fructose μ mole/g de tissu	
	Animaux atteints de diabète alloxanique	Animaux recevant l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique	Animaux atteints de diabète alloxanique	Animaux recevant l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique
Cristallin	30 \pm 2,4	7,18 \pm 0,65	6,12 \pm 1,1	2,85 \pm 0,56
Nerf	12,1 \pm 1,3	9,8 \pm 0,94	6,25 \pm 1,3	3,25 \pm 0,73

L'administration de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique a conduit à la modification des teneurs étudiées du sang. On a constaté la diminution de la teneur en fructose (2,26-0,16 mg %); $P < 0,02$ et de la teneur en cholestérine (100-7,1 mg %; $P < 0,05$). Le niveau du glucose reste inchangé (340,1-27,8 mg %; $P < 0,5$).

Ainsi, l'administration de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou des sels sodique ou potassique de celui-ci (bloquant l'aldose-réductase) a conduit à l'amélioration sensible des indices biochimiques et morphologiques des animaux soumis à l'expérience.

Le procédé d'obtention de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique est basé sur la condensation de l'acide γ -aminobutyrique et de l'anhydride d'acide 1,8-naphtalique dans du diméthylformamide pendant 40 à 80 min à une température de 125 à 135 °C.

Les sels de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique sont dûs à la réaction de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique dans un milieu aqueux avec les bases correspondantes.

On donnera ci-dessous à titre d'exemple des procédés d'obtention de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique et de certains de ses sels.

EXEMPLE 1

On a placé, dans un ballon muni d'un thermomètre et d'un réfrigérant à reflux, 150 ml de diméthylformamide fraîchement distillé, 4,8 g (0,054 moles) d'acide γ -aminobutyrique et 10 g (0,05 moles) d'anhydride d'acide 1,8-naphtalique. Le contenu du ballon a été chauffé et maintenu à la température durant 60 min. Ensuite on ajoute de l'eau jusqu'à l'apparition des premiers cristaux et on attend la cristallisation complète. La recristallisation se fait en milieu d'éthanol. Le rendement est de 13,03 g (92 %). La température de fusion est de 178 à 180 °C. On a calculé la teneur en C, H, N : 67,84 % ; 4,6 % ; 4,95 % respectivement. On a trouvé C, H, N : 67,84 %, 4,6 % ; 4,95 % respectivement.

4,75 % et 4,90 % respectivement.

Dans le spectre infrarouge de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique on observe des bandes d'absorption intenses à 1667 cm^{-1} , 1708 cm^{-1} (vibration de valence de C=O) ; de 782 cm^{-1} (vibrations de déformation de la liaison C-H du noyau naphthalique) ; de 971 cm^{-1} (oscillations du noyau isoquinoléique).

EXEMPLE 2

On prend 98 g d'eau distillée, 2 g d'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique et 0,29 g d'hydroxyde de sodium. On mélange ces composants jusqu'à dissolution complète. On procède à la filtration. Le sel sodique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique est à administrer par voie orale.

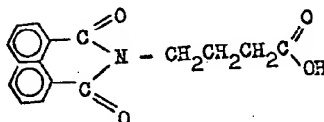
EXEMPLE 3

On prend 98 g d'eau distillée, 2 g d'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique et 0,4 g d'hydroxyde de potassium que l'on mélange jusqu'à dissolution complète de ces composants. On filtre la solution. Le sel potassique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique est à administrer par voie orale.

REVENDICATIONS

1 - Acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ayant la formule structurale suivante :

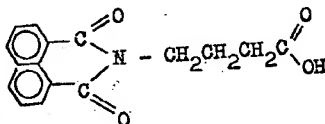
5



10

2 - Sels pharmacologiquement acceptables de l'acide 1,3-dioxo-1H(benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique, ayant la formule structurale suivante :

15



dans laquelle R est le sodium ou le potassium.

3 - Préparation pharmaceutique pour le traitement des complications diabétiques, caractérisée en ce qu'elle contient, à titre de principe actif, l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou un de ses sels pharmacologiquement acceptables et un excipient.

4 - Préparation pharmaceutique pour le traitement des complications diabétiques suivant la revendication 3, caractérisée en ce qu'elle contient, à titre de principe actif, l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique ou un de ses sels pharmacologiquement acceptables en une quantité de 0,25 à 0,5 g et un excipient.

5 - Préparation pharmaceutique pour le traitement des complications diabétiques suivant la revendication 4, caractérisée en ce qu'on utilise en tant qu'excipient une charge pharmaceutique et en ce qu'elle se présente sous forme de comprimés.

6 - Préparation pharmaceutique pour le traitement des complications diabétiques suivant la revendication 3, caracté-

sée en ce qu'elle comporte le sel sodique ou potassique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique en tant que principe actif et un excipient, des composants étant présents dans la proportion suivante (% en poids) :

- 5 sel sodique ou potassique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique..... 1 à 10
 excipient..... 90 à 99

- 7 - Préparation pharmaceutique pour le traitement des complications diabétiques suivant la revendication 6, caracté-
10 risée en ce que l'excipient est constitué par une charge pharmaceutique et en ce qu'elle se présente sous forme d'une pommade.

- 8 - Préparation pharmaceutique pour le traitement des complications diabétiques suivant la revendication 6, caracté-
15 risée en ce que l'excipient est constitué par une charge pharmaceutique et en ce qu'elle se présente sous la forme d'un suppositoire.

- 9 - Préparation pharmaceutique pour le traitement des complications diabétiques suivant la revendication 3, caracté-
20 risée en ce qu'elle comporte une solution aqueuse à 1-2 % de sel sodique ou potassique de l'acide 1,3-dioxo-1H-benz(de)isoquinoléine-2(3H)-butyrique.